MORPHOLOGIE DES GLYKOGENS WÄHREND EIBILDUNG UND EMBRYONAL-ENTWICKLUNG VON WIRBELLOSEN

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT
(SEKTION II)
DER K. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

VORGELEGT VON

WILHELM BRAMMERTZ
AUS CÖLN

ACAD. LUGD BAT BIBL.

EINGEREICHT AM 18. JUNI 1913

LEIPZIG UND BERLIN
WILHELM ENGELMANN
1913

Referent: Geheimrat Professor Dr. RICHARD VON HERTWIG

Sonderabdruck aus »Archiv für Zellforschung«, Bd. XI, 3. Heft

Inhalt.

Seite

A. Einleitung 390
B. Spezieller Teil 391
1. Material und Methoden 391
2. Untersuchte Formen 391
a) *Ascaris megalocephala* 391
b) I. Vermes 398
Turbellarien.
a) *Mesostomum Ehrenbergii* 398
b) *Thysanozoon Brocchi* 399
II. Echinodermen 399
Echinus microtuberculatus 401
Asterias glacialis 402
Holothuria sp.? 402
III. Arthropoden 403
Crustaceen 403
a) *Cyclops* 403
b) *Moina rectirostris* 403
c) *Gammarus pulex* 403
d) *Astacus fluviatilis* 403
Insekten 404
a) *Apis mellifica* 404
b) *Bombyx mori* 404
c) *Cerambyx* spec.? 406
d) *Meloe proscarabaeus* 407
C. Zusammenfassung 408

Einleitung.

Seit der Entdeckung des Glykogens durh Claude Bernard hat sich eine große Anzahl von Physiologen, Anatomen und Zoologen mit diesem Kohlehydrat beschäftigt. Die große Bedeutung, die es für den Wirbeltierorganismus hat, ist durch die Arbeiten Claude Bernards und seiner ungezählten Nachfolger längst erkannt. Ebenfalls Claude Bernard hat sein Vorkommen bei Wirbellosen entdeckt und zwar bei Würmern (*Taenia*, *Lumbricus*) und Arthropoden (Fliegenlarven), und auch hier folgten bald andre Untersucher nach. Bizio (1866, 1881) wies bei einer Reihe von Mollusken Glykogen chemisch nach. Picard (1874) fand es bei Spongien und Echinodermen, bei Arthropoden Vitzon, Kirch u. a. in den Geweben des Flußkrebses usw. Bütschli beschrieb das Vorkommen eines dem Glykogen ähnlichen Stoffes bei Gregarinen und später gelang es auch, echtes Glykogen bei einer großen Anzahl von Protozoen nachzuweisen (vgl. v. Fürth, 1903).

Morphologische Untersuchungen liegen verhältnismäßig wenige vor, wenn auch schon früh sich das Bestreben zeigte, neben dem chemischen Nachweis mikrochemische Reaktionen vorzunehmen. Barfurth veröffentlichte 1885 als erster eine größere, mit Abbildungen versehene Arbeit über das Glykogen bei Mollusken, speziell *Helix pomatia*. Trotzdem das Vorkommen von Glykogen in den weiblichen Geschlechtsprodukten von Wirbellosen bei einer großen Anzahl von Tieren schon lange, schon den ersten Untersuchern bekannt war, liegen über diesen Punkt bis heute nur sehr spärliche Mitteilungen vor. Es sind hier zu nennen die Arbeiten von Brault und Loeper (1904), Busch (1905—06) über Glykogen in Eizellen und Embryonen von Nematoden und Cestoden und aus jüngster Zeit die Untersuchung von v. Kemnitz, deren Resultate im Laufe dieser Arbeit besprochen werden. Der Plan der vorliegenden Arbeit war daher, bei einer Anzahl von Vertretern verschiedener Klassen der Wirbellosen die Morphologie des Glykogens im Ei und während der Embryonalentwicklung festzustellen und daraus womöglich Schlüsse auf die Bedeutung jener Reservesubstanz für die ersten Entwicklungsvorgänge zu ziehen. Die Arbeit stellt so ein Glied in einer Reihe von Untersuchungen über die Morphologie des Glykogens dar, die auf Anregung von Prof. Goldschmidt im hiesigen zoologischen Institut teils ausgeführt wurden, teils noch bearbeitet werden.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle allen denen zu danken, die mich bei meiner Arbeit unterstützt haben. Mein ganz besondrer Dank gehört meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Richard von Hertwig,

sowie Herrn Prof. Richard Goldschmidt, der die Anregung zu der vorliegenden Untersuchung gab und durch sein ständiges Interesse den Fortgang der Arbeit förderte.

Material und Methoden.

Als Material zu der vorliegenden Untersuchung dienten Ovarien, Eier und Embryonen verschiedener Formen aus verschiedenen Klassen der Wirbellosen. Über die Art der Gewinnung des Materials wird bei den einzelnen Vertretern gesondert berichtet. Als Fixierungsflüssigkeit wurde fast ausschließlich Carnoysche Flüssigkeit verwendet, die das Glykogen nicht löst, und durchwegs eine gute Fixierung ergab. Eingebettet wurde in Paraffin, ohne daß Lösungserscheinungen bei der nachfolgenden Färbung zu bemerken waren. Die Schnitte wurden meistens trocken aufgeklebt, nachdem der Objektträger mit einer möglichst dünnen Schicht Eiweißglyzerin bestrichen war. In den Fällen, wo die Kleinheit des Objektes oder des zu schneidenden Blockes ein trocknes Aufkleben unmöglich machte, wurde mit 50—55% Alkohol aufgeklebt, doch trat bei diesem Verfahren manchmal eine partielle Lösung des Glykogens ein. Die entparaffinierten Schnitte wurden nach Arnold (1909) mit einer dünnen Celloidinschicht überzogen, um eine Kernfärbung mit Delafieldscher oder Alaun-Hämatoxylinlösung (nach P. Ehrlich) zu ermöglichen. Die Schnitte wurden dann gewässert, bis eine Bläuung eingetreten war, ohne daß beim Vergleich mit nur auf Glykogen gefärbten Präparaten eine Lösung des Glykogens zu bemerken gewesen wäre. Die Celloidinschicht wurde dann entfernt, die Färbung auf Glykogen nach Best (1906) vorgenommen und die differenzierten und entwässerten Präparate durch Xylol in Kanadabalsam eingeschlossen. Als Kontrolle für die Richtigkeit der Bestschen Färbung wurde die Jod- und Speichelreaktion in allen zweifelhaften Fällen vorgenommen. Auch die von P. Mayer (1909) zur Färbung des Glykogens angegebene Gallustinte kam zur Anwendung, doch lieferte sie nicht so kontrastreiche Bilder wie das Bestsche Karmin, dem daher der Vorzug gegeben wurde. Für spezielle Zwecke wurde Eisenhämatoxylin nach Heidenhain angewandt.

Ascaris megalocephala.

Das *Ascaris*-Ei zeigt in seinem Entwicklungsgang eine Reihe von Besonderheiten. Hauptsächlich durch Boveris Untersuchungen (1892, 1899) ist die Erscheinung der Kerndiminution bekannt, die darin besteht, daß auf dem Zweizellenstadium in der einen Tochterzelle (S_1) die schleifenförmigen Chromosomen ihre Enden abwerfen und gleichzeitig die Mittel-

stücke in eine große Anzahl von kleineren Einzelchromosomen zerfallen. In der andern Tochterzelle (P_1) bleiben die großen schleifenförmigen Chromosomen erhalten. Auf dem Vierzellenstadium wird wiederum in einer der durch Teilung von P_1 entstandenen Zellen der Prozeß der Diminution wiederholt, während S_1 mit den diminuierten Chromosomen die Teilung vollzieht. Von den vier Zellen enthält also nur eine die ursprünglichen Chromosomen. Der Vorgang der Diminution wird viermal wiederholt, von diesem Moment ab gehen aus der als P_4 bezeichneten Zelle durch Teilung nur noch Zellen hervor, deren Chromosomen nicht mehr diminuiert werden, die die Geschlechtszellen des jungen Tieres vorstellen. Die Zellen mit diminuierten Chromosomen liefern durch ihre weiteren Teilungen die übrigen, die somatischen Zellen des Embryo. Den ursächlichen Faktor für die Erscheinung der Kerndiminution, mit der Hand in Hand ein bestimmter, nicht veränderlicher Wert der Zellen geht, sucht Boveri in Verschiedenheiten der protoplasmatischen Beschaffenheit, auf die später noch eingegangen wird. Durch eine Reihe von Befunden und experimentellen Untersuchungen an normalen, besonders aber doppeltbefruchteten und zentrifugierten Eiern (1904, 1910, Boveri und Hogue 1909, Boveri und Stevens 1904) hat er mit zwingender Notwendigkeit die Unumgänglichkeit dieser Annahme bewiesen.

Durch die im Laufe der Untersuchung noch eingehender zu besprechenden Arbeiten Brault und Loepers (1904), Buschs (1905—6) und v. Kemnitz' (1911) wissen wir, daß das *Ascaris*-Ei Glykogen in großen Mengen enthält. Die Fragestellung, die den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit gab, lautete daher: Spielt das Glykogen bei der Auslösung der Kerndiminution als mitbestimmender Faktor eine Rolle und lassen sich aus der Glykogenverteilung Schlüsse auf einen Zusammenhang zwischen der Potenz der Zellen und der Anwesenheit des Glykogens ziehen?

Zunächst einige Worte über die Methodik. Die dem lebensfrischen Pferdedarm entnommenen Tiere wurden in physiologische Kochsalzlösung von 37° gebracht, die Uteri herauspräpariert, diese zum Teil gleich fixiert, zum Teil nach Boveris Angaben auf Objektträger gebracht und zur Weiterentwicklung in feuchten Kammern aufgehoben. Die Entwicklung dauert bekanntlich in Zimmertemperatur etwa 3 Wochen, kann aber, dadurch daß man die Eier in höhere oder niedere Temperatur bringt, beliebig rascher oder langsamer gestaltet werden. In regelmäßigen Abständen wurden Teile der Geschlechtsschläuche fixiert, nachdem vorher an einer Probe unter dem Mikroskop ungefähr das Stadium festgestellt worden war. Es entwickelten sich nicht alle Embryonen gleichmäßig, die mehr

an der Peripherie gelegenen schneller als die im Innern von Luft und Wärme abgeschlossenen. Über die Fixierungsmethode und die Färbung ist schon oben berichtet. Eingebettet wurde durch Xylol, Xylol-Paraffin in 56° und 60° Paraffin, was bei genügender Vorsicht und langsamem Übertragen keine Schrumpfung ergab. In Paraffin blieben die Stücke in der Regel etwa zwei Stunden. Die Schnittdecke betrug 5—15 μ.

Über die Glykogenablagerungen im Ovar von *Ascaris* besitzen wir die Untersuchungen von v. Kemnitz (1912). v. Kemnitz fand in sehr jungen Ovarialröhren die Ovogonien selbst frei von Glykogen, das Follikelepithel dagegen zeigt reichliche Anhäufungen. Auf späteren Stadien enthalten Ovogonien und Wandepithelzellen gleich viel Glykogen, während die Rhachis frei davon bleibt oder nur Spuren aufweist. Gegen Ende der Wachstumperiode findet sich in den Ovogonien Glykogen in sehr beträchtlichen Mengen, während jetzt das Wandepithel frei ist.

Ausführliche Untersuchungen über die Art und Weise, wie das Glykogen bei der Embryonalentwicklung verbraucht wird, besitzen wir nicht. Busch (1905—06) wies in den weiblichen Geschlechtsprodukten von *Ascaris megalocephala*, *Ascaris lumbricoides*, *Oxyuris vermicularis*, *Sclerostomum armatum* und *Ankylostomum duodenale* mittels der Jodmethode Glykogen nach, während im vorhergehenden Jahre (1904) Brault und Loeper in reifen Eiern und Embryonen von *Strongylus* (*filaria* und *refuscens*) beträchtliche Mengen von Glykogen gefunden hatten. Außerdem liegt noch eine Angabe von Marcus (1906) vor, der bei *Ascaris mystax* auf dem Zweistellenstadium schon eine sehr beträchtliche Abnahme des Glykogens feststellte. Die Richtigkeit dieses Befundes ist durch v. Kemnitz bezweifelt worden, findet aber durch die im folgenden mitzuteilenden Befunde bei *Ascaris megalocephala* eine gewisse Bestätigung. Die große Menge Glykogen, die sich in den von Brault und Loeper abgebildeten *Strongylus*-Embryonen findet, läßt sich meiner Ansicht nach nur so erklären, daß es sich um junge Tiere handelt, die schon selbständig Nahrung aufgenommen und Glykogen gebildet haben. Besonders wahrscheinlich erscheint das, da sich, nach den Abbildungen zu urteilen, die Untersuchungen auf freie, nicht mehr in eine Schale eingeschlossene Tiere beziehen.

Das Ei, das kurz vor der Befruchtung steht, zeigt in seinem Plasma große Mengen Glykogen, so daß das ganze Ei vollständig von größeren und kleineren Glykogentröpfchen erfüllt erscheint.

Schon frühere Untersucher (A. Schneider 1883, Nussbaum 1884, Boveri 1888, Erlanger 1897), die sich mit dem Studium der Struktur des Protoplasmas des *Ascaris*-Eies befaßt haben, beschreiben übereinstim-

mend in dem aus einem bald feinfädigen, bald weitmaschigen protoplasmatischen Gerüstwerk, das sich auf einer homogenen Grundsubstanz ausbreitet, größere und kleinere Dotterkörner, die als Kugeln oder als Kristalle bezeichnet werden. Die leichte Löslichkeit dieser am lebenden Objekt beobachteten Substanz wird betont. Was hier den Untersuchern vorlag, war zweifellos Glykogen. Denn dieses liegt, wie sich aus mit Best-schem Karmin gefärbten Präparaten ergibt, ebenso wie die Kristalle und glänzenden Kugeln der früheren Beobachter in der Grundmasse zwischen dem protoplasmatischen fädigen Gerüst (s. Fig. 1 und v. Kemnitz, Fig. 4, 5, 43).

Wird das Ei befruchtet, so tritt in der Region des zerfallenden Glanzkörpers des Spermatozoons in der Regel ein stärkerer Abbau von Glykogen ein. v. Kemnitz möchte annehmen, daß dies durch ein vom Glanzkörper in das Ei gebrachtes Ferment veranlaßt wird. Über Glykogen und Richtungskörperbildung sagt v. Kemnitz Folgendes: »Die Regel ist, daß in unmittelbarer Umgebung der Richtungsspindel sich besonders reichlich Glykogen findet... Es scheint gerade in der Umgebung der Richtungsspindel keine oder nur eine äußerst geringe Spaltung des Glykogens vor sich zu gehen. Die Richtungsspindel liegt vielmehr in den Glykogenschollen so eingekeilt, daß es fast wunder nehmen muß, wie die Richtungskörperbildung glatt von statten gehen kann, wobei man freilich nicht vergessen darf, daß man im Leben mit einem halbflüssigen Zustand des Glykogens rechnen muß...« (v. Kemnitz, Fig. 4). Nach meinen Untersuchungen scheint der von v. Kemnitz beschriebene Zusammenhang zwischen Glykogen und Reifeteilungen nicht zu bestehen, sicher nicht als Regel. Ebenso oft sah ich auch während der Reifeteilungen eine vollständig gleichmäßige Verteilung des Glykogens (s. v. Kemnitz, Fig. 43) im ganzen Ei, ohne daß sich in der Gegend der Richtungsspindel eine stärkere Anhäufung zeigte. Manchmal schien es sogar, als ob gerade in der Umgebung der Teilungsfigur ein stärkerer Verbrauch von Glykogen stattfände, sodaß das morphologisch wechselnde Bild gar keinen direkten Zusammenhang zwischen Glykogen und Reifeteilungen erschließen läßt. Die Richtungskörper enthalten übrigens, wenn sie ausgestoßen werden, oft auch kleine Mengen von Glykogen.

Bei der Ausbildung der Vorkerne, die sich auch noch im Innern des mütterlichen Uterus vollzieht, geht der starke Abbau des Glykogens weiter, der dem Untersucher besonders sinnfällig vor Augen tritt, wenn zufällig ein unbefruchtetes Ei im gleichen Gesichtsfelde liegt mit Eiern, in denen die Vorkerne schon ausgebildet sind.

Werden die Eier abgelegt, so ist ihr Glykogengehalt viel geringer

als der auf früheren Stadien. Auch in bezug auf die Färbbarkeit und Form des noch vorhandenen Glykogens ist ein Unterschied bemerkbar. Während sich das Glykogen in Befruchtungs- und Vorkernstadien sehr distinkt in Form von groben und feinen Schollen nachweisen ließ, erhielt ich auf späteren Stadien in weitaus den meisten Fällen nur eine sehr diffuse Färbung, sodaß es lange zweifelhaft schien, ob es sich hier überhaupt noch um Glykogen handle. Erst der positive Ausfall der oft wiederholten Speichel- und Jodprobe ließ es als unzweifelhaft erscheinen, daß doch Glykogen vorlag. Es blieb daher nichts anders anzunehmen, als daß eine Änderung des Aggregatzustandes des Glykogens eingetreten ist: Während für die jüngsten Stadien der Entwicklung von *Ascaris* sicher eine im Leben dickflüssige Konsistenz des Glykogens angenommen werden muß, ist mit dem Verbrauch zugleich eine stärkere Verflüssigung wahrscheinlich; nur in Fällen, in denen der Glykogenreichtum der Eier ein sehr großer war (daß der Glykogengehalt der Eier je nach dem Ernährungszustand des Muttertieres gewissen, wenn auch nicht allzu großen Schwankungen unterworfen ist, braucht wohl kaum besonders betont zu werden), gelang es noch auf dem Zweizellenstadium Glykogen in feinsten Tröpfchen nachzuweisen. In allen übrigen Fällen und immer auf späteren Stadien erhielt ich eine vollkommen diffuse Färbung.

Das ungefurchte *Ascaris*-Ei besitzt im Leben eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Heteropolie des Plasmas, sodaß man oft schon am ungeteilten Ei zwei Hälften unterscheiden kann, die bei der Teilung in eine größere dotterarme, nach ZUR STRASSEN als dorsale bezeichnete, und eine kleinere, dotterreichere, ventrale genannte Zelle zerlegt werden. Im fixierten und gefärbten Ei läßt sich die Heteropolie nicht mehr feststellen, weder an Präparaten, die mit den gebräuchlichen Plasmafarbstoffen behandelt werden, noch an solchen, die auf Glykogen hin gefärbt sind. Auf dem Zweizellenstadium ist mit Sicherheit eine gleichmäßige Verteilung des vorhandenen Glykogens auf beide Zellen zu konstatieren. Während der Teilung bis zur Ausbildung der Ruhekerne liegt das Glykogen in den peripheren Partien der Zellen, während in der näheren Umgebung der Spindel und der in Bildung begriffenen Ruhekerne Glykogen in der Regel nicht oder nur in Spuren nachweisbar ist (Fig. 1). Dies scheint darauf hinzuweisen, daß in der Umgebung der Teilungsfigur ein stärkerer Verbrauch stattfindet als in den übrigen Teilen der Zelle. Dieses Verhältnis von Glykogen und Teilungsfigur besteht auch in allen späteren Teilungen. Während dieser ist eine weitere ständige, im Verhältnis zu der kurz nach der Befruchtung beobachteten, allerdings sehr minimale Abnahme des Glykogens zu verzeichnen. Aber es läßt sich in keiner Weise irgend

ein größerer oder geringerer Glykogengehalt einer bestimmten Zelle oder bestimmter Zellengruppen als Regel feststellen, die darauf schließen ließe, daß ein Zusammenhang zwischen Kerndiminution und Glykogen oder auch zwischen Potenz der Zellen und Glykogen besteht. Die definitive Entscheidung mußte das Stadium geben, wo die Urgeschlechtszelle als solche endgültig bestimmt ist und ihre weiteren Abkömmlinge ihre Chromosomen nicht mehr diminuieren. Eine eingehende Untersuchung vieler Hunderter dieser Stadien ergab ein vollkommen negatives Resultat: Eine Bevorzugung oder Benachteiligung der Urgeschlechtszelle in bezug auf ihren Glykogengehalt findet sich nicht. Wenn es auch in einigen Fällen so schien, als enthielte die als P_4 bezeichnete Urgeschlechtszelle mehr Glykogen als die somatischen Zellen, so standen dem all die übrigen Fälle gegenüber, die eine vollkommen gleichmäßige Verteilung klar erwiesen. Und sollte sich ein Zusammenhang finden, so müßte er doch in der überwiegenden Mehrzahl zu konstatieren sein.

Bei den weiteren Teilungen, die dann zur schließlichen Ausbildung des Embryo führen, ist ein Fortschreiten des Glykogenverbrauchs morphologisch überhaupt nicht mehr konstatierbar. Glykogen ist immer noch in kleinen Mengen in den Furchungszellen und den Zellen des Embryo vorhanden. Ich habe niemals einen Embryo gefunden, in dem sich nicht noch Glykogen hätte nachweisen lassen. Daß es sich in diesem Falle wieder um Kohlehydrat handelt, das vom jungen Tier neugebildet ist, scheint ausgeschlossen, da wohl kaum eine Nahrungsaufnahme des noch in der Eihülle eingeschlossenen Embryo anzunehmen ist, ferner auch die Menge des im Embryo darstellbaren Glykogens keinen wesentlichen Unterschied gegenüber den letzten Furchungsteilungen zeigt.

Versucht man nun, für diese Befunde — starke Abnahme des Glykogens während und kurz nach der Befruchtung, allmählicher langsamer Verbrauch während der Furchungsteilungen, der aber nie zu einem völligen Verschwinden des vorhandenen Glykogens führt — eine Erklärung zu finden, so ergibt sich diese vielleicht aus Folgendem: Warburg (1908) hat durch Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs bei unbefruchteten und befruchteten Seeigeleiern festgestellt, daß der Verbrauch an Sauerstoff nach der Befruchtung auf das 6—7fache des der unbefruchteten Eier steigt und auch während der Furchungsteilungen auf ungefähr derselben Höhe bleibt. Anderseits wissen wir durch Weinlands Untersuchungen über den Stoffwechsel von *Ascaris* (1901 und 1902), daß *Ascaris* zu den anaeroben Organismen gehört, d. h. daß die zur Aufrechterhaltung der Lebensvorgänge nötige Energie durch einen gärungsartigen Prozeß, durch

Spaltung des Glykogens in Kohlensäure und eine niedere Fettsäure (hauptsächlich Valeriansäure) erhalten wird.

Bei Berücksichtigung dieser beiden Untersuchungsergebnisse lassen sich die oben mitgeteilten Befunde bei *Ascaris* so erklären: Die Embryonalentwicklung geht bis zur Vorkernbildung im mütterlichen Uterus vor sich; durch die Befruchtung tritt ein plötzliches Anschnellen des Energiebedarfes ein, den das *Ascaris*-Ei, welchem äußerer Sauerstoff nicht zur Verfügung steht, durch reichliche Spaltung des Glykogens deckt. Der starke Abbau ist morphologisch zu konstatieren bei Richtungskörperbildung und Vorkernbildung. Auf diesem Stadium wird das Ei abgelegt; da es damit auch bald ins Freie gelangt, so ist auch wohl von vornherein wahrscheinlich, daß das *Ascaris*-Ei ebenso wie das Seeigelei seinen Energiebedarf durch Entnahme von Sauerstoff aus dem umgebenden Medium deckt (vgl. Weinland, 1901, S. 67). Da jetzt eine bessere Ausnutzung des Glykogens durch Spaltung in niedere Zucker und Verbrennung dieser zu Kohlensäure und Wasser möglich ist, wie sie sich beim acroben Tier findet, da ferner die Entwicklung des *Ascaris*-Eies zeitlich viel langsamer verläuft als die des Seeigeleies, ergibt sich hieraus die Erklärung für die langsame, ständige Abnahme des Glykogens während der außerhalb des mütterlichen Uterus stattfindenden Embryonalentwicklung. Es wurde oben bemerkt, daß das Glykogen niemals völlig verschwindet, daß es sich vielmehr im jungen Tier immer noch in ziemlich beträchtlichen Mengen nachweisen läßt. Es ist bekannt, daß *Ascaris*-Eier unter gewissen Bedingungen[1]) sich auch im Alkohol entwickeln können, da ihre Schale undurchlässig gegen Alkohol ist. Meistens sterben jedoch die Eier auf verhältnismäßig frühen Stadien ab. Abgesehen davon, daß Alkohol mit Sauerstoff gesättigt ist, den das Ei zu seiner Entwicklung verbrauchen kann, ist auch nicht unwahrscheinlich, daß das bei normaler Entwicklung im fertigen Embryo noch nachweisbare Glykogen unter ungünstigen Entwicklungsbedingungen, wenn keine Möglichkeit vorhanden ist, Energie von außen zu erhalten, in ähnlicher Weise wie im anoxybiotischen Tier und dem im mütterlichen Uterus während Reifung und Befruchtung anoxybiotisch lebenden Ei gespalten wird. Ist dann diese Energiequelle verbraucht, und stehen dem Ei auch keine andern Energiequellen mehr zur Verfügung, was immerhin nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen wäre, so wird die Entwicklung sistiert. Der Embryo stirbt ab.

[1]) Welche Bedingungen dazu nötig sind, ist nicht bekannt; daß aber nur in wenigen Fällen eine Entwicklung eintritt, davon habe ich mich selbst überzeugt: Von etwa 100 in 70%igen Alkohol eingelegten Tieren waren in den 30 untersuchten Uteri die Eier in ihrer Entwicklung in keinem Falle über das Zweizellenstadium hinausgekommen.

Die Erscheinung, daß im Lebenscyklus eines anoxybiotischen Tieres ein oxybiotischer Abschnitt eingeschoben ist, kann weiter nicht wundernehmen. Es sei nur erinnert an den zur Familie der Anguilluliden gehörigen *Strongyloides intestinalis*, der eine getrennt-geschlechtliche, freilebende, oxybiotische Form hat, die in Generationswechsel steht mit einer hermaphroditen, im menschlichen Darm schmarotzenden Form. Oder es sei hingewiesen auf die bei vielen Insekten beobachteten Verhältnisse, z. B. bei der zu den Dipteren gehörigen *Anthomya canicularis*, deren Larve, die gewöhnlich auf faulenden pflanzlichen Stoffen lebt, auch im menschlichen Darm anaerob leben kann.

Fassen wir zum Schluß dieses Abschnittes die Resultate kurz zusammen. Die ursprüngliche Frage: Besteht ein Zusammenhang zwischen den Erscheinungen der Kerndiminution und der damit zusammenhängenden Potenz der Zellen? mußte verneint werden. Es ergab sich aber aus den Glykogenbefunden bei den im mütterlichen Uterus die ersten Entwicklungsstadien (Reifung und Befruchtung) durchlaufenden Eiern eine Bestätigung der von Warburg bei Seeigeleiern beobachteten Steigerung des Energiebedarfes durch die Befruchtung. Dieses Resultat, das bei Seeigeleiern mit physiologischen Methoden erhalten wurde, ist bei *Ascaris* durch deren aberrante Stoffwechselerscheinungen einer morphologischen Prüfung zugänglich. Aus den Glykogenbefunden bei den sich außerhalb des mütterlichen Tieres weiterentwickelnden Eiern konnte der Schluß gezogen werden, daß aller Wahrscheinlichkeit nach während dieser Zeit der Embryo normalerweise oxybiotisch lebt.

Die bei *Ascaris* erzielten Ergebnisse ließen es wünschenswert erscheinen, auch bei Repräsentanten aus andern Klassen der Wirbellosen Untersuchungen über die Morphologie des Glykogens anzustellen und event. aus den Befunden Schlüsse auf dessen Bedeutung und Verwendung zu ziehen.

Im folgenden sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die behandelten Formen nach dem System geordnet, mitgeteilt.

Mesostomum Ehrenbergii.

Es wurden Tiere untersucht, deren Geschlechtsorgane sowohl Ovogonien wie auch Ovocyten in allen Stadien enthielten bis zu solchen, die befruchtet waren und ihre Schale gebildet hatten. Da die Fixierung mit Carnoyscher Flüssigkeit keine brauchbaren Präparate lieferte, wurden die Tiere mit der von v. Kemnitz angegebenen Fett- und Glykogenfixierung konserviert, die zufriedenstellende Resultate ergab.

Ovogonien und junge Ovocyten enthielten niemals Glykogen, letztere

dagegen Spuren von Fett. Ersteres scheint erst kurz vor der Schalenbildung aufzutreten, dann in nicht unbeträchtlichen Mengen, die allerdings zu dem viel größeren Fettreichtum in keinem Verhältnis stehen. Dieser macht es geradezu unmöglich, Genaueres über die Form und Lagerung des auftretenden Glykogens festzustellen.

Glykogen scheint aber überhaupt in den weiblichen Geschlechtsprodukten der Turbellarien keine große Rolle zu spielen, wie sich aus den Resultaten der Untersuchung einer zweiten Form ergab.

Thysanozoon Brocchi.

Bei diesem Polycladen fand sich merkwürdigerweise im Gegensatz zu *Mesostomum* nur in ganz jungen Ovocyten, die das Ende der Wachstumperiode noch nicht erreicht hatten, Glykogen gleichmäßig durch das ganze Ei verteilt. In Eiern, die die Reifungsteilungen durchmachen, ist keine Spur von Glykogen mehr vorhanden, eben so wenig wie auf späteren Stadien jemals welches gefunden wird. Es geht daraus hervor, daß Glykogen bei *Thysanozoon* nur vorübergehend in der Ovogenese auftritt, um bei dem Wachstum der Ovocyte verbraucht zu werden.

Vor kurzem erschien eine Arbeit von J. Gelei über die Ovogenese von *Dendrocoelum lacteum*, in welcher der Verfasser auch Resultate über Glykogenuntersuchungen von Eizellen mitteilt. Glykogen trat bei dieser Form, ähnlich wie bei *Thysanozoon* in der Wachstumsperiode auf, immer fand es sich gegen Ende der Wachstumsperiode; die Masse war nicht abhängig von reichlicher oder nicht reichlicher Ernährung des Muttertieres. Die Reifeteilungen wurden nicht untersucht.

Ähnliche Verhältnisse wie bei *Thysanozoon* scheinen nach den gleichzeitig erscheinenden Untersuchungen von Ortner bei einigen Trematoden, *Fasciola hepatica* und *Polystomum integerrimum*, zu herrschen Bei diesen findet sich in den jungen Ovocyten Glykogen, das in dem zusammengesetzten Uterusei in der Eizelle verschwunden ist, während die Dotterzellen viel Kohlehydrat enthalten.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich, daß Glykogen in den Eizellen von Turbellarien und nach Ortners Untersuchungen auch bei Trematoden nur intermediär auftritt, um schon vor den Reifeteilungen wieder zu verschwinden.

Echinodermen.

Eine ausführliche Beschreibung der weiblichen Geschlechtsorgane der Echinodermen findet sich in der Arbeit von Cuénot: Etude morphologique sur les Echinodermes (1891). Über die Veränderungen, die

das Ovar im Laufe des Jahres zwischen den einzelnen Sexualperioden durchmacht, besitzen wir keine ausführliche Untersuchung. Der einzige, der darüber eine Mitteilung veröffentlichte, ist Caullery (1911). Er unterscheidet im Ovar, wie auch frühere Untersucher (Liter. s. Cuénot) zwei wohlgeschiedene Elemente: Erstens die Keimzellen und zweitens sphärische Zellen, deren Volumen fast ganz von einer hyalinen, großen Vacuole eingenommen wird, die nur durch eine schmale Schicht peripheren Protoplasmas begrenzt werden; in dieser Hülle findet man den Kern, außerdem überall verstreut eine große Anzahl Eiweißkugeln von verschiedenem Umfang. Diese Zellen nennt Caullery »cellules vésiculeuses«. In einer 1903 erschienenen kurzen Mitteilung hatten Caullery und Siedlecki diese Zellen zum ersten Male beschrieben und behauptet, daß ihnen phagocytäre Funktion zukomme, indem sie am Ende der Sexualperiode die nicht abgelegten Geschlechtselemente auffräßen. Diese »cellules vésiculeuses« Caullerys sind augenscheinlich identisch mit den von Cuénot und früheren Autoren beschriebenen cellules vitellines, die ebenso wie die Zellen Caullerys Dotterpartikel enthalten, die zur Ernährung der jungen Eizellen dienen.

Von einer phagocytären Funktion dieser Zellelemente schreibt Cuénot nichts. In der ersterwähnten Arbeit aus dem Jahre 1911 veröffentlicht Caullery nun seine weiteren Untersuchungen über die Beziehungen zwischen den Keimzellen und den »cellules vésiculeuses« während eines Jahreszyklus. Im reifen Ovar finden sich keine oder nur wenige dieser Zellgebilde, im degenerierenden Ovar dagegen treten sie in großen Mengen auf, um bei der neu eintretenden Sexualperiode wieder allmählich zu verschwinden. Ihre Neuentstehung im degenerierenden Ovar soll so vor sich gehen: »De la paroi partent vers la lumière, des lames de cellules vésiculeuses de nouvelle formation«.

Im Hoden soll die Entstehung etwas anders erfolgen: Schon auf dem Stadium der vollen Reife ließen sich in dem Keimepithel, das aus mehreren Reihen dichtgedrängter Zellen besteht (das Keimepithel des Ovars ist einschichtig), zwei Arten von Zellen unterscheiden, eine mehr zentrale Schicht, die normale Spermatocyten mit normalen Kernen enthält und eine periphere, deren Zellen einen etwas größeren und sehr wenig chromatophilen Kern besitzen. Im Hoden, bei dem die Entleerung der Spermatozoen schon stattgefunden hat, findet eine Umwandlung der Zellen der äußersten Schicht des Hodens statt, die durch ihren chromatinarmen, größeren Kern aufgefallen waren. »Il s'y était concrété dans le cytoplasma des groupes de sphérules de réserve et, par formation progressive d'une grande vacuole, les cellules ainsi modifiés écartent leurs voisines. Ainsi

se forme la génération nouvelle de cellules vésiculeuses qui sont des cellules de la couche périphérique intercalées au milieu des spermatogonies et peutêtre identiques à celles-ci.«

Ehe ich auf die Glykogenverhältnisse im Ovar der Seeigel und der übrigen untersuchten Echinodermen eingehe, möchte ich kurz meine Befunde über die Beziehungen zwischen Keimzellen und »cellules vésiculeuses« der Echiniden mitteilen. Die von mir untersuchten Ovarien (*Echinus microtuberculatus*) waren alle entweder auf dem Stadium, wo die Ablage der Eier erfolgt ist oder aber es waren solche, bei denen die allmähliche Bildung von jungen Ovocyten wieder begann. Hoden und völlig reife Ovarien wurden nicht untersucht.

Beginnen wir mit dem Moment, wo die Mehrzahl der Eier abgelegt ist, so finden wir von »cellules vésiculeuses« noch sehr wenig. Wie die erste Entstehung dieser Zellen ist, habe ich an meinem Material nicht feststellen können: daß sie zum Teil wenigstens wie Cuénot es angibt und Caullery es auch für wahrscheinlich hält, direkt als modifizierte Eizellen vom Keimepithel aus gebildet werden, kann jedoch kaum einem Zweifel unterliegen. Über eine andre Bildungsmöglichkeit gibt uns das Schicksal der im Ovar zurückgebliebenen Eier Auskunft. Diese erscheinen an verschiedenen Stellen des Ovars in Gruppen zusammenliegend. In der Nähe liegen meistens regellos oder in größeren Ansammlungen Leukocyten, die offenbar die Funktion haben, den Abbau der Eier zu veranlassen. Fig. 4 zeigt ein Bild, auf dem wir einen solchen Phagocytenhaufen auf der Wanderung zu einem Ei finden. Die Phagocyten dringen in das Plasma des Eies ein; dieses ballt sich zu stärker färbbaren Klumpen zusammen, die sich abrunden und später als Eiweißkugeln im ganzen Ovar verteilt erscheinen. Bei diesem Prozeß nimmt das Plasma natürlich an Volumen ab; während der Kern, der sich immer weniger färbt, sodaß er schließlich als ein heller, fast gänzlich ungefärbter Fleck erscheint, an Größe zunimmt (Fig. 5). Diese Größenzunahme des Kernes ist wohl auf eine Änderung des osmotischen Druckes innerhalb des Eies zurückzuführen (Gelei 1913). Schließlich kommt es so weit, daß von der ursprünglichen Plasmasubstanz sich nur noch schwache Reste vorfinden, und in die ehemalige Kernhöhle eine Flüssigkeitsaufnahme aus der Umgebung stattfindet. Dies läßt sich aus den Bildern folgern, auf denen man ein zum Centrum des stark vergrößerten, jetzt vollkommen achromatischen Kernes gerichtetes Eindringen von feinsten Glykogentröpfchen sieht. Daß diesen sonderbaren Gebilden, die den Namen Zellen wohl kaum mehr verdienen, wie aus dem eben Mitgeteilten sich ohne weiteres ergibt, nicht, wie Caullery meinte, phagocytäre, sondern eine ernährende Funktion

zukommt, erhellt auch aus der Untersuchung der Glykogenverhältnisse im Ovar. In Eiern oder sich bildenden, noch am Keimepithel festsitzenden Ovocyten findet sich niemals Glykogen (Fig. 3); dies ist um so mehr auffallend, als bei der Degeneration der im Ovar zurückbleibenden Eier Glykogen in großen Mengen auftritt (Fig. 2). In den degenerierenden Eiern findet man zwar selbst auf den Stadien, wo die ursprüngliche Gestalt des Eies kaum mehr zu erkennen ist, wo also, wie vorher ausgeführt worden ist, das Plasma sich zusammenballt, der Kern aufquillt, noch keine Spuren von Glykogen. Es tritt erst auf, nachdem die ursprüngliche Eisubstanz vollkommen abgebaut ist, dann allerdings in großen Mengen. In den Stadien vollkommener Degeneration ist der Glykogengehalt am größten (Fig. 2), wenn das morphologische Bild einen Schluß auf die Quantität des vorhandenen Glykogens erlaubt, überhaupt der größte, den ich bei meinen Untersuchungen der Genitalorgane bei Wirbellosen gefunden habe. In Ovarien, die am Beginn einer neuen Sexualperiode stehen, bei denen die Neubildung junger Ovocyten beginnt, ist eine deutliche Abnahme des Glykogengehaltes zu konstatieren (Fig. 3). Es kann wohl kaum einem Zweifel unterliegen, daß das Glykogen beim Aufbau der neuen Sexualprodukte verwendet wird, ebenso wie die aus den degenerierten Eiern hervorgegangenen Eiweißkugeln. Letztere finden sich im Plasma der heranwachsenden Eier als kompakte oder einem Ruhekern ähnliche vacuolisierte Gebilde, wie es schon Cuénot beschrieben hatte.

Fassen wir die Resultate kurz zusammen, so ergibt sich: die »cellules vésiculeuses« Caullerys sind ihrer Entstehung nach degenerierte Eizellen ebenso wie die Eiweißkugeln Reste solcher sind, — außerdem ist noch die Möglichkeit vorhanden, daß sie direkt als umgewandelte Keimzellen vom Keimepithel aus gebildet werden. Phagocytäre Gebilde stellen sie sicher nicht dar, zu diesem Behufe sind besondere Phagocyten, deren Vorkommen im Ovar übrigens Cuénot und frühere Autoren schon beschrieben, während Caullery sie scheinbar nicht beobachtet hat, vorhanden; sie dienen vielmehr, wie auch ihr Glykogenreichtum erweist, zur Ernährung der am Keimepithel sich neu differenzierenden Keimzellen.

Die für die Echiniden beschriebene Existenz von zweierlei Elementen, Keimzellen und anderweitiger nach der Sexualperiode im Ovar auftretenden Gebilde sollen nach Caullery bei den übrigen Gruppen der Echinodermen nicht bestehen.

An dem mir zur Untersuchung vorliegenden Material (*Asterias glacialis* und *Holothuria spec*?) konnte ich ebenfalls eine analoge Erscheinung nicht feststellen, trotzdem bin ich nach den im folgenden mitgeteilten Ergebnissen der Ansicht, daß eine spezielle, an einem größeren

Material unternommene Untersuchung ähnliche Erscheinungen nachweisen würde.

Das *Asterias*-Ovar in voller Reife ist angefüllt mit Eiern, die ebenso wenig wie die Echinus- oder Holothurieneier Glykogen enthalten. In Ovarien, die zum Teil schon abgelaicht haben, sieht man an verschiedenen Stellen bindegewebige schwach glykogenhaltige Fortsätze der das Ovar umgebenden Bindegewebshülle in das Lumen des Ovars hervorragen, die sich stellenweise zu größeren Komplexen, in denen auch Glykogen enthalten ist, erweitern. Überall verstreut trifft man auch oft sehr große Ansammlungen von Leukocyten, doch gelang es nicht, in Eiern eingedrungene Phagocyten zu beobachten. Hier und da bemerkt man auch Eiweißkugeln, die denen der Echiniden glichen und auch ihrer Entstehung nach wie bei jenen sicher Reste der abgebauten Eier sind. Ovarien, bei denen die Degeneration der zurückgebliebenen Eier weiter fortgeschritten war, lagen nicht vor. Die untersuchten Holothurienovarien enthielten nur reife Eier, die kein Glykogen aufwiesen.

Aus der Untersuchung der Glykogenverhältnisse im Ovar der Echinodermen ergibt sich also, daß Glykogen nur zu Zeiten der Degeneration des Ovars nach dem Abbau der zurückgebliebenen Eier auftritt, um aller Wahrscheinlichkeit nach beim Aufbau der sich neu differenzierenden Keimzellen, die selbst niemals Glykogen enthalten, verbraucht zu werden. Also hier wieder eine andersartige Bedeutung dieses Kohlehydrats.

Crustaceen.

Cyclops sp.? Moina rectirostris, Gammarus pulex.

Die ersten drei untersuchten Crustaceenformen können zusammen behandelt werden, da bei allen sich das gleiche Resultat ergab. Von *Moina* wurden sowohl Ephippial- wie auch verschiedenartige Subitaneier auf Glykogen geprüft; von *Cyclops* und *Gammarus* im Sommer gefangene Tiere. Die *Cyclops*-Weibchen enthielten in den Eiersäckchen Embryonen auf ziemlich späten Stadien, bei denen mit Sicherheit, ebenso wie bei sämtlichen untersuchten Eiern von *Moina* und *Gammarus* Glykogen sich nicht nachweisen ließ.

Astacus fluviatilis.

In dem Plasma des heranreifenden, von einem Follikelepithel rings umgebenen Eies lassen sich zwei Schichten unterscheiden, eine schmälere, um das Keimbläschen ringförmig gelagerte, und eine zweite, die die gesamte übrige Ovocyte erfüllt und gegen die erste durch einen ganz schmalen ungefärbten Streifen abgesetzt ist (Fig. 6). Auf diesem Stadium finden

sich in keiner der beiden Schichten, in denen morphologische Verschiedenheiten der in ihnen enthaltenen Substanzen nicht festgestellt werden konnten, Glykogen. Erst bei dem weiteren Fortschreiten des Wachstums der jungen Ovocyte, gleichzeitig mit Beginn der Dotterbildung tritt in der das Keimbläschen umgebenden Schicht ein sehr feinkörniges Glykogen auf (Fig. 7). Diese Schicht erscheint jetzt nicht mehr als konzentrischer Kreis um das Keimbläschen, sondern sie sendet nach allen Seiten Fortsätze in den umgebenden Dotter aus, der viel grobscholliger ist als in den kleineren Eizellen. Auch in diesem Teil des Eies findet man vereinzelt wenige Glykogentröpfchen (Fig. 7). Will man mit Cremer (1902) annehmen, daß der Prozeß der Glykogensynthese ein fermentativer Vorgang ist (s. auch v. Kemnitz, S. 510), so müßte in dem vorliegenden Falle dem morphologischen Bild zufolge, diese Wirkung vom Kern ausgehen, der die Polymerisation des von außen aufgenommenen Zuckers veranlaßt. Was weiterhin mit dem Glykogen geschieht, konnte nicht untersucht werden, da die vorliegenden Ovarien keine späteren als die beschriebenen Stadien enthielten.

Bei *Astacus fluv.* findet sich also im Gegensatz zu den vorher behandelten Formen, speziell *Ascaris*, Glykogen in den heranreifenden Eiern nicht gleichmäßig durch die ganze Ovocyte verteilt, Glykogen tritt hier viel mehr in einer engbegrenzten Zone um den Kern auf, die Bildung scheint von diesem aus veranlaßt zu werden.

Apis mellifica.

Hauptsächlich durch die Arbeit von J. Straus (1911) ist die große Bedeutung, die das Glykogen bei der Metamorphose der Honigbiene besitzt, wenigstens in den Grundzügen erkannt. Morphologische Untersuchungen über Form und Lagerung, Aufbau und Verwendung des Glykogens sind weder bei der Honigbiene noch überhaupt bei Insekten, abgesehen von der später zu erwähnenden Untersuchung von Vaney und Conte (1910) bei *Bombyx mori*, gemacht worden.

Die von mir untersuchten Eier stammten aus Drohnenzellen. Ihr Alter betrug bis zu 48 Stunden; sie enthielten, wie die Untersuchung zeigte, Stadien von der Richtungskörperbildung bis zur vollständigen Ausbildung des Blastoderms.

Das eben abgelegte Ei, das gerade die Reifungsteilungen durchläuft, zeigt im Innern eine gleichmäßige Verteilung von einzelnen größeren und kleineren Glykogenanhäufungen, die ein unregelmäßiges, lappiges Aussehen haben. Sie liegen in den Zwischenräumen, die die einzelnen Plasmavacuolen (durch den Alkohol der Carnoyschen Flüssigkeit ausgewaschene

Fettröpfchen usw.) lassen. Konstant finden sich größere Anhäufungen in dem Keimhautblastem, das in seiner ganzen Ausdehnung rings um das Ei große Glykogenmassen in feineren und gröberen Tröpfchen enthält. An einer Stelle erstreckt sich diese Schicht tiefer ins Innere des Eies und bildet hier das sogenannte Richtungsplasma. Dieses zeigt denn auch beträchtliche Ablagerungen von Glykogen. Ein starker Verbrauch während der Richtungskörperbildung ist im Gegensatz zu *Ascaris* nicht wahrnehmbar (Fig. 8). Erst während der Furchungsteilungen läßt sich ein solcher konstatieren. Die Furchungskerne, die sich im Innern des Eies bilden, enthalten in dem sie umgebenden Plasma Glykogen in Form von feinsten Tröpfchen, das der Menge nach während der fortschreitenden Teilung immer mehr abnimmt (Fig. 9). Rücken die Kerne zur Bildung des Blastoderms an die Peripherie, so enthält der ihnen zugehörige Plasmahof, der im Laufe der Furchungsteilungen an Größe stark abgenommen hat, Glykogen nur noch in Spuren. Die Zellen des ausgebildeten Blastoderms enthalten nun wieder Glykogen in größerer Menge; es ist wohl anzunehmen, daß sie den Vorrat des Keimhautepithels in sich aufnehmen. Besonders eigenartig sind die Kerne, die im Innern zurückbleiben, und als Dotterkerne (O. Dickel, 1904) bezeichnet werden; sie machen teilweise eine sonderbare Veränderung durch. Der eine, größere Teil rückt auf den einen Pol des Eies zu und beteiligt sich wahrscheinlich an der Bildung des Entoderms (s. Dickel, S. 495), während der kleinere Teil zurückbleibt und zweifellos die Funktion hat, beim Abbau des Dotters tätig zu sein (vgl. Nachtsheim, 1913). Doch schon auf Stadien, wo die Bildung des Blastoderms noch nicht beendet ist, läßt sich eine tiefgreifende Veränderung in dem Aussehen dieser Dotterkerne konstatieren. Der Kern wächst heran, wird immer weniger chromatisch färbbar, indem sich das Chromatin zu einem oder mehreren Klumpen zusammengeballt an einem Punkte, meistens in der Nähe der Kernmembran, sammelt (Fig. 10). Im Innern des Kernes, der dann fast vollkommen achromatisch geworden ist, treten ein oder mehrere Glykogentropfen auf (Fig. 11). Dieser Prozeß spielt sich in einem Ei gleichzeitig an vielen Dotterkernen ab, während andre ihr normales Aussehen und scheinbar ihre normale Funktion noch behalten haben. Schließlich werden wohl alle im Innern des Eies zurückbleibenden Dotterkerne diesen Prozeß, der sicher dem Ende der »Kern«-funktion gleichzusetzen ist, durchmachen und resorbiert werden. Ein ganz ähnlicher Fall ist in der gleichzeitig erscheinenden Arbeit von P. Ortner bei den Dotterkernen von *Caryophyllaeus* beschrieben worden, dessen Kenntnis ich der gütigen Mitteilung von Frau Ortner zu verdanken habe. In den Kernen der Dotterzellen von *Caryophyllaeus* tritt

auch, nachdem das Chromatin sich zu einem Klumpen zusammengeballt an der Kernmembran gesammelt hat, ein Glykogentropfen auf, der das ganze Kerninnere einnimmt. v. Kemnitz veröffentlichte die Befunde Goldschmidts bei *Pelomyxa*, wo dieser einen direkten Zusammenhang von Kern und glykogenigem Glanzkörper feststellen konnte, eine Beobachtung, die durch Ortner bestätigt wurde. Wegen der Deutung dieses Prozesses verweise ich auf die Arbeit von Ortner.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich: Während des ersten Teiles der Embryonalentwicklung wird ein sicher sehr großer Teil der zur Entwicklung nötigen Energie durch Verwendung des Glykogens geliefert. Von größtem Interesse ist ferner die Tatsache, daß in den bei der Blastodermbildung im Innern des Eies zurückbleibenden Dotterkernen, die bald degenerieren, Glykogen auftritt.

Bombyx mori.

Der Reichtum der Eier von *Bombyx* an Glykogen ist schon seit 1885 durch Tichomiroffs quantitative chemische Untersuchungen bekannt und seitdem mehrfach der Gegenstand quantitativ chemischer Arbeiten gewesen. Hier wäre als neuere Untersuchung die Arbeit von C. Vaney und A. Conte zu nennen, welche die Entwicklung von *Bombyx* auf die Beziehungen zwischen Glykogen und Fett studierten. Sie machten die interessante Beobachtung, daß während des ersten Teiles der Entwicklung (»constitution de la bandelette germinative et des éléments vitellines«) (etwa 5 Tage) $^2/_3$ des Gesamtverbrauches durch das Glykogen bestritten wird. Während des zweiten Teiles der Embryonalentwicklung (»la période de la vie latente« [9 Monate]), nimmt der Glykogengehalt auf Kosten des vorhandenen Fettes wieder zu, das während dieser Periode die hauptsächlichste Verbrauchsquelle ist. In dem dritten Teile der Entwicklung (la période d'édification embryonnaire. [etwa 12 Tage]), ist wieder eine starke Abnahme von Glykogen zu bemerken; diesmal nimmt der Fettgehalt etwas zu. Aus dem Umstande, daß Glykogenverbrauch nur zu den Zeiten zu konstatieren ist, wo eine Zellvermehrung stattfindet, leiten die Verfasser den Schluß ab, daß das Glykogen bei der Zellvermehrung eine große Rolle spielt. Das Glykogen wurde in der intermediären Periode auch mikroskopisch nachgewiesen, vermittelst Jodlösung, Lubarschscher Lösung und Gallustinte: Es soll das Glykogen in dieser Zeit auf den Dottersack lokalisiert werden, um später beim Aufbau des jungen Tieres verbraucht zu werden. »Le tissu vitellin doit être considéré comme une annexe embryonnaire qui ainsi que les annexes embryonnaires des Vertébrés, sert de centre d'élaboration du glycogène.« Die mir zur Untersuchung vorliegen-

den *Bombyx mori*-Eier befanden sich auf den gleichen Stadien, wie die von *Apis*; sie enthielten den Verlauf der Entwicklung von dem Moment der Ablage, d. i. Richtungskörperbildung bis zur Blastodermbildung. Die Glykogenverhältnisse von *Bombyx* entsprechen morphologisch denen der der Biene vollkommen: Keimhautblastem und Richtungsplasma enthalten die größten Ablagerungen, doch auch im Innern der Eier findet man reichliche Mengen. In dem Plasma der Furchungskerne, das an Menge dem von *Apis* nachsteht, konnte im Gegensatz zu den Verhältnissen, die bei *Apis* beobachtet wurden, Glykogen nicht nachgewiesen werden. Fig. 12 zeigt die Furchungskerne auf der Wanderung zu dem sehr glykogenreichen Keimhautblastem.

Aus der auch bei *Bombyx* zu konstatierenden Abnahme des Glykogens während des ersten Teiles der Embryonalentwicklung läßt sich in gleicher Weise wie für die Eier der Honigbiene der Schluß ziehen, daß das Glykogen sicher einen sehr großen Teil der zur Entwicklung nötigen Energie liefert.

Meloe proscarabaeus.

Die untersuchten Ovarialeier dieses Käfers waren einem Weibchen entnommen, dessen Eier ablagereif waren; der ganze Hinterleib war angefüllt mit den großen, nur durch einen dünnen Stiel noch mit der Wand des Ovars verbundenen Ovocyten[1]). Das Plasma der Eier zeigte auf Schnitten folgendes Bild: Es bestand zum größten Teil aus großen, kreisrunden, vollkommen homogenen, mit Delafieldschem Hämatoxylin stark färbbaren Eiweißkugeln, zwischen denen Fett und Glykogen in Form von Tropfen lag (Fig. 13 u. 14). In einem Teil der Eiweißkugeln findet sich meistens mehr oder weniger excentrisch gelegen ein, zwei, drei, oft auch sehr viele Glykogentropfen (Fig. 13, 15, 16, 17). Außerdem sieht man im Plasma an einigen Stellen Glykogenansammlungen, die von einer schmalen, oft kaum wahrnehmbaren Plasmahülle umgeben sind, die sich färberisch ebenso verhält wie die Eiweißkugeln (Fig. 18). Das im Innern dieser Hülle gelegene Glykogen zeigt gegenüber dem frei im Plasma liegenden oder in den Eiweißkugeln eingeschlossenen eine stark aufgelockerte fädige Struktur, so daß ein Bild entsteht, das sehr an das Spiremstadium eines Kernes erinnert (Fig. 18). Diese verschiedenen Stadien — einerseits die vollkommen homogen erscheinenden Eiweißkugeln, anderseits die Kugeln mit wenigen oder zahlreichen darinnen lagernden Glykogen-

[1]) Das mit Carnoyscher Flüssigkeit fixierte Material hat mir Dr. Buchner überlassen, der mich auch sonst mit Material unterstützte, wofür ich ihm zu Dank verpflichtet bin.

tröpfchen und der von einer schmalen Plasmaschicht umgebene Glykogenfaden — legen den Gedanken nahe, daß es sich um eine allmähliche Bildung von Glykogen aus den Dotterkugeln handelte: denn mit Abnahme der Dottersubstanz wächst die Größe oder Anzahl der Glykogenablagerungen. Der Vorgang wäre dann ungefähr so zu denken, daß an einer oder gleichzeitig mehreren oder vielen Stellen in den vorher vollkommen homogenen Kugeln Vacuolen auftreten, in denen das Glykogen in Tröpfchen abgelagert wird. Das schließlich entstehende fädige Aussehen des gebildeten Kohlehydrats wäre entweder durch Auflockerung oder durch Zusammenfließen der einzelnen Tröpfchen zu erklären. Die den Faden oft noch begrenzende Plasmahülle ist dann nichts anderes, als der letzte Rest der ehemaligen Kugeln. Verschwindet auch diese, so kann das Glykogen frei ins Ei verteilt werden, sodaß schließlich dieses in seiner Glykogenverteilung sich durch nichts von den für die andern Insekten beschriebenen Verhältnissen unterscheidet. Es ist wohl anzunehmen, daß nicht sämtliche Dotterkugeln diese Umwandlung erfahren, sondern daß ein Teil als solche bestehen bleiben; doch, da mir keine späteren als die beschriebenen Stadien vorlagen, kann ich hierüber nichts Genaueres geben.

Cerambyx spec.?

Der zum Vergleich mit dem Ölkäfer herangezogene zweite Vertreter der Coleopteren stammte aus der Familie der Bockkäfer.

Die untersuchten Ovarialeier waren in Dotter- und Glykogenbildung noch nicht so weit wie die vorher besprochenen von *Meloe*. Das Eiinnere, das zum großen Teil aus Dotterkugeln bestand, die denen von *Meloe* glichen, im Durchmesser vielleicht etwas kleiner erschienen, enthielt erst sehr wenig Glykogen. Eine größere Ansammlung fand sich nur in der Umgebung des Eikernes, im Richtungsplasma. Im übrigen zeigten die Eier gegenüber den bei *Apis* und *Meloe* beschriebenen Verhältnissen keine Besonderheiten.

Zusammenfassung.

Die im Laufe der Arbeit erhaltenen Untersuchungsergebnisse seien, soweit sie eine allgemeinere Betrachtung zulassen, zum Schlusse zusammengestellt.

Scheidet man die Formen, bei denen Glykogen in den Geschlechtsprodukten nicht nachgewiesen werden konnte (*Cyclops*, *Moina*, *Gammarus*), und ferner die Vertreter der Gruppe, bei der Glykogen nur intermediär auftritt (*Mesostomum*, *Thysanozoon*) aus der Betrachtung aus,

so läßt sich aus allen übrigen gemeinsam Folgendes feststellen: Während der Embryonalentwicklung tritt eine Abnahme von Glykogen ein, d. h. ein großer Teil der zur Entwicklung nötigen Energieumsetzungen geht auf Kosten des Glykogens vor sich. Dieser Verbrauch kann sich nun, wie während Reifeteilung und Befruchtung des *Ascaris*-Eies, in einer rapiden, oder, wie bei sämtlichen übrigen untersuchten Formen und auch bei *Ascaris* selbst während der späteren Entwicklung, in einer langsamen, aber ständig fortschreitenden Abnahme äußern. Diese Erscheinung erklärt sich aus den verschiedenen Entwicklungsbedingungen der Eier. Im sauerstoffreien Medium, in dem das *Ascaris*-Ei seine erste Entwicklung durchläuft, findet nur eine oberflächliche Spaltung des Glykogens statt, analog der im erwachsenen Tier beobachteten, während in sauerstoffhaltiger Umgebung eine tiefergehende, also viel haushälterischere Spaltung möglich ist.

Eine andersartige Bedeutung des Glykogens, die mit der eben besprochenen keinen Zusammenhang erkennen läßt, ergibt sich aus den bei der Untersuchung der Ovarien der Echinodermen gemachten Beobachtungen. In den normalen ablegereifen Eiern der aus dieser Klasse untersuchten Vertreter findet sich niemals Glykogen. Erst bei der Degeneration der nach dem Ablaichen zurückbleibenden Eier tritt es auf und zwar in großen Mengen, um in dem wieder zur Neubildung von Geschlechtsprodukten schreitenden Ovar zu verschwinden. Augenscheinlich wird es beim Aufbau der jungen Ovocyten verwendet. In welcher Weise dies geschieht, läßt sich morphologisch nicht feststellen.

Literaturverzeichnis.

Arnold, J. (1909). Zur Morphologie des Muskelglykogens und zur Struktur der quergestreiften Muskelfaser. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXXIII.

Barfurth, D. (1885). Vergleichend histochemische Untersuchungen über das Glykogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXV.

Best, F. (1906). Über Carminfärbung des Glykogens und der Kerne. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIII.

Bizjo, J. (1866). Sur l'existence du glycogène dans les animaux invertébrés. Compt. rend. T. LXII.

—— (1866). Glicogeno negli animali invertebrati. Atti dell' Istituto Veneto di scienze. Vol. XI.

—— (1881). Über das Verhalten des Glykogens bei wirbellosen Tieren. Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre. Bd. XIII.

Boveri, Th. (1888). Zellenstudien. I und II. Jena.

—— (1892). Über die Entstehung des Gegensatzes zwischen den Geschlechtszellen und den somatischen Zellen bei Ascaris meg. nebst Bemerkungen über die Entwicklungsgeschichte der Nematoden. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München. Bd. VIII.

—— (1899). Die Entwicklung von Ascaris meg. mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. v. Kupffer. Jena.

—— (1904). Protoplasmadifferenzierung als auslösender Faktor für Kernverschiedenheit. Sitzungsber. d. Phys.-Med. Ges. Würzburg. Jahrg. 1904.

—— (1910a). Über die Teilung centrifugierter Eier von Ascaris meg. Festschr. f. Wilh. Roux. Arch. f. Entwicklungsmech.

—— (1910b). Die Potenzen der Ascarisblastomeren bei abgeänderter Furchung. Festschr. f. Rich. Hertwig. Bd. III.

Boveri, Th. und Hogue, M. J. (1909). Über die Möglichkeit, Ascariseier zur Teilung in zwei gleichwertige Blastomeren zu veranlassen. Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg. Jahrg. 1909.

Boveri, Th. und Stevens, N. M. (1904). Über die Entwicklung dispermer Ascariseier. Zool. Anzeiger. Bd. XXVII.

Brault, A. et Loeper, M. (1904). Le glycogène dans le développement de certains parasites (Cestodes et Nematodes). Journal de Physiologie et de Pathologie générale. Vol. VI.

Busch, P. W. C. M. (1905—06). Sur la localisation du glycogène de quelques parasites intestinaux. Arch. int. de Phys. T. III.

Caullery, M. (1911). Structure et cycle annuel des glandes génitales des Oursins, en particulier de l'Echinocardium cordatum. Compt. Rendus de l'Association des Anatomistes. Treizième Réunion. 1911.

Caullery et Siedlecki. (1903). La résorption phagocytaire des produits génitaux inutilisés chez l'Echinocardium cordatum. Compt. R. Acad. Sc. T. CXXXVII.

Cremer, M. (1902). Physiologie des Glykogens. Ergebnisse der Physiologie. Bd. I.

Cuénot. (1891). Etude morphologique sur les Echinodermes. Archives de Biologie. T. XI.

Dickel, O. (1904). Entwicklungsgeschichtliche Studien am Bienenei. Zeitschr. f. wiss. Zoologie. Bd. LXXVII.

v. Erlanger, R. (1897). Beiträge zur Struktur des Protoplasmas, der karyokinetischen Spindel und des Centrosoms. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLIX.

v. Fürth. (1903). Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena.

Gelei, J. (1913). Über die Ovogenese von Dendrocoelum lacteum. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

v. Kemnitz, G. (1912). Die Morphologie des Stoffwechsels bei Ascaris lumbricoides. Arch. f. Zellforsch. Bd. VII.

Marcus, H. (1906). Ei und Samenreife bei Ascaris canis. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

Mayer, P. (1909). Zur Färbung des Glykogens. Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. Bd. XXIV.

Nachtsheim, H. (1913). Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (Apis mellifica). Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Ortner, P. (1913). Zur Morphologie des Glykogens bei Trematoden und Cestoden. Arch. f. Zellforsch. Bd. XI.

Picard. (1874). Observations sur la Glycogénie chez un certain nombre d'animaux marins. Gaz. méd.

Schneider, A. (1883). Das Ei und seine Befruchtung.

Straus, J. (1911). Die chemische Zusammensetzung der Arbeitsbienen und Drohnen während ihrer verschiedenen Entwicklungsstadien. Zeitschr. f. Biologie. Bd. LVI.

Tichomiroff. (1885). Chemische Studien über die Entwicklung der Insekteneier. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. IX.

Vanny et Conte. (1910). Recherches sur le développement de l'œuf de Ver à Soie univoltin. Compt. rend. Acad. Sciences. T. CL.

Warburg, O. (1908). Beobachtungen über die Oxydationsprozesse im Seeigelei. Zeitschr. f. phys. Chemie. Bd. LVIII.

Weinland, E. (1901). Über Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris, einen tierischen Gärungsprozeß. Zeitschr. f. Biologie. Jubelband zu Ehren v. C. Voit. Bd. XLII. (24).

—— (1906). Über den anaeroben (anoxybiotischen) Abschnitt der intermediären chemischen Prozesse in der Puppe von Calliphora. Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLVIII. (30).

Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren sind mit einem Abbeschen Zeichenapparat in Objekttischhöhe gezeichnet. Die Präparate waren alle mit Delafieldschem Hämatoxylin-Bestschem Carmin gefärbt.

Tafel XVII.

Fig. 1. *Ascaris megalocephala*: Zweizellenstadium. Ausbildung der Ruhekerne. Obj. Zeiss' 2 mm. Apochromat. Ocul. 3.

Fig. 2. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar im Zustande vollkommener Erschöpfung. Große Mengen Glykogen. Viele Eiweißkugeln. Obj. 5 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 3. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar, in dem die Neubildung von jungen Ovocyten wieder begonnen hat. Abnahme des Glykogens und der Eiweißkugeln. Obj. 5 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 4. *Echinus microtuberculatus*: Schnitt durch ein Ovar kurz nach der Ablage der Eier. Ein Phagocytenhaufen auf der Wanderung zu einem zurückgebliebenen Ei, das der Degeneration anheimfällt. Links und rechts von der Hauptansammlung vereinzelte Phagocyten. Obj. 2 mm. Ocul. 1.

Fig. 5. *Echinus microtuberculatus*: Ei aus dem gleichen Ovar wie die vorhergehende Figur. Eingedrungene Phagocyten, das Plasma ballt sich zusammen, der Kern nimmt an Größe zu, ist fast nicht mehr färbbar. Obj. 2 mm. Ocul. 3.

Fig. 6. *Astacus fluviatilis*: Junge Eizelle mit zwei durch eine ungefärbte, dem Keimbläschen konzentrische Zone getrennten Plasmaschichten. Obj. 3 (Leitz). Ocul. 3.

Fig. 7. *Astacus fluviatilis*: Ältere Eizelle aus demselben Ovar wie die vorhergehende Figur. In der Schicht um den Kern tritt Glykogen auf. Der Dotter hat ein grobscholliges Aussehen angenommen. Obj. 3 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 8. *Apis mellifica*: Schnitt durch ein Ei auf dem Stadium der Richtungskörperbildung. Starke Glykogenablagerung im Richtungsplasma und Keimhautblastem. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 6.

Fig. 9. *Apis mellifica*: Furchungskerne im Innern des Eies. Im Plasma der Furchungskerne (deren Teilungsfigur sich im Innern des Kernes anlegt), Glykogen, das im Lauf der späteren Teilungen immer mehr abnimmt. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 8.

Fig. 10. *Apis mellifica*: Im Innern des Eies zurückgebliebener Dotterkern. Beginn der Degeneration: Das Chromatin ballt sich zusammen. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 18.

Fig. 11. *Apis mellifica*: Dotterkern aus demselben Ei wie die vorhergehende Figur. Im Innern des völlig achromatischen Kernes tritt Glykogen auf. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 18.

Fig. 12. *Bombyx mori*: Furchungskerne im Begriff an die Peripherie zu rücken, die von dem glykogenreichen Keimhautblastem eingenommen wird. Obj. 6 (Leitz). Ocul. 1.

Fig. 13. *Meloe proscarabaeus*: Schnitt durch ein Ei mit vielen Eiweißkugeln, die teils vollkommen homogen sind, teils im Innern Glykogentropfen enthalten, im Plasma ebenfalls frei Glykogen, außerdem zwei »Glykogenfäden« von kugeliger Form, deren Begrenzung als Rest der umgewandelten Dotterkugeln aufzufassen ist. Ocul. 3. Obj. 7 (Leitz).

Fig. 14. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel, vollkommen homogen bei stärkerer Vergrößerung. Obj. 2 mm. Comp.-Ocul. 6.

Fig. 15. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel mit einer Glykogenkugel im Innern. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 16. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel mit zwei Glykogenkugeln im Innern. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 17. *Meloe proscarabaeus*: Dotterkugel, auf etwas späterem Stadium. Die im Innern gelegene Glykogenkugel übertrifft an Volumen die übriggebliebene Dottersubstanz. Vergr. s. Fig. 14.

Fig. 18. *Meloe proscarabaeus*: »Glykogenfaden«, dessen nur sehr schwach sichtbare Begrenzung durch Reste der ehemaligen Dotterkugeln gebildet wird. Vergr. s. Fig. 14.

LEBENSLAUF

Ich, Friedrich Wilhelm Brammertz, katholisch, wurde geboren den 17. Juli 1890 in Cöln a. Rhein als Sohn des Lehrers Peter Brammertz. Von Frühjahr 1900 an besuchte ich die Gymnasialabteilung des städtischen Gymnasiums und Realgymnasiums in Cöln in der Kreuzgasse. Im März 1909 erhielt ich das Reifezeugnis. S.-S. 1909 und W.-S. 1909/10 studierte ich an der rheinischen Friedrich-Wilhelm-Universität in Bonn, seit S.-S. 1910 an der Ludwig-Maximilian-Universität in München Naturwissenschaften. Bis W.-S. 1911/12 einschließlich gehörte ich der philosophischen Fakultät (II. Sektion) an, seither bin ich in der medizinischen Fakultät inskribiert.

Vorlesungen und Practica besuchte ich bei den Herren Professoren und Dozenten: Benecke, P. Buchner, F. Doflein, O. Frank, K. v. Frisch, K. v. Goebel, R. Goldschmidt, R. v. Hertwig, H. Kayser, M. Koernicke, H. Ludwig, O. Maas, S. Mollier, Rothpletz, Rückert, Steinmann, E. Strasburger, Stromer v. Reichenbach, W. Voigt.

Ihnen Allen schulde ich Dank.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.